

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	がんと概日リズムの関連から同定したがん抑制遺伝子の新規標的制御機構の解析		
研究テーマ (英文)	Analysis of cancer control mechanisms related to cancer and circadian rhythm		
研究期間	2018年 ~ 2021年		研究機関名 関西医科大学
研究代表者	氏名	(漢字)	三木貴雄
		(カタカナ)	ミキタカオ
		(英文)	Miki, Takao
	所属機関・職名	関西医科大学薬理学講座・講師	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	高橋 智聡
		(カタカナ)	タカハシ チアキ
		(英文)	Takahashi, Chiaki
	所属機関・職名	金沢大学がん進展制御研究所・教授	

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

我々は、がんと概日リズムの関連を解明することにより、1) 創薬につながる新たながん分子標的制御機構の探索。2) 概日リズムの新しい分子制御機構の解明を目的として研究を進めている。現在までの研究で、がんと概日リズムには緊密な関わりがあり、PER2をはじめとした概日リズムの重要な構成遺伝子は、同時にがん抑制遺伝子でもあることが示唆されている。我々は、これらの知見を逆にとり、がん抑制遺伝子の中には、概日リズムの構成因子であるものが存在するという仮説を提唱しており、これまでに、Promyelocytic Leukemia (PML)、p53が、PER2を介して直接、概日リズムを制御する機構を解明した (Miki et al., *EMBO J*2012, *J Circadian Rhythm*2013, *Nat Commun*2013, *Sci Rep.* 2016)。現在は Retinoblastoma protein (Rb)に注目している。Rbはp53と並び最もがんで変異が見られるがん抑制遺伝子で、細胞周期やDNA損傷応答に重要な遺伝子である。しかし、Rbと概日リズムの直接の関連を示唆する研究は未だ報告されていない。本研究ではがん抑制遺伝子Rbと概日リズム遺伝子Rev-Erba/bとの新たな関連を同定し、創薬につながるがん分子標的制御機構の探索や、概日リズムの新しい分子制御機構の解明を目的として研究を推進した。

まず我々はRbによるRev-Erb $\alpha/\beta$ の活性制御機構が存在する可能性を検討した。Rev-Erb $\alpha/\beta$ は転写抑制因子として知られている。この結合領域はRRE (Rev-Erb/ROR-binding element) 配列と呼ばれ、Cry1の1stイントロンに存在することが報告されている。そこでCry1の1stイントロンRRE配列近傍の1030bpをルシフェラーゼに繋いだレポーターアッセイを行った結果、RBの存在に依存してCry1プロモーター活性に変化がみられた。これは、RBによりRev-Erb $\alpha/\beta$ の活性が変化した可能性を示唆するものであった。そこで、Rev-Erb $\alpha/\beta$ の存在下、非存在下で同様の実験を行ったが、Rbによる活性には変化が見られなかった。また、培養細胞を用いて免疫沈降法によりRbとRev-Erb $\alpha$ の共沈を調べたが、検出できなかった。これらの結果は、RbはRev-Erb $\alpha/\beta$ 非依存的にCry1プロモーターを制御していることを示唆している。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）					
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Our research aims to elucidate the relationship between cancer and circadian rhythms in order to: 1) identify new regulatory mechanisms of cancer; 2) elucidate new molecular regulatory mechanisms of circadian rhythms. Recent studies suggest that cancer and circadian rhythms are closely related, and that important components of circadian rhythms, such as PER2, are also tumor suppressor genes. We have been reported that tumor suppressor Promyelocytic Leukemia (PML) and p53 directly regulate the circadian rhythm via PER2. Currently, we focus on Retinoblastoma protein (Rb), a well-known tumor suppressor gene in cancer, and attempting to find a new relationship between Rb and the circadian rhythm gene Rev-Erb $\alpha/\beta$ . The Rev-Erb $\alpha/\beta$  are well known transcriptional repressors. In this study, we performed a Cry1 promoter luciferase assay and found that the Cry1 promoter activity was changed depending on the presence of RB. This suggested that the activity of Rev-Erbs may have been altered by RB. Therefore, we performed similar experiments in the presence and absence of Rev-Erb $\alpha$ , but no change in activity by Rb was observed. In addition, coprecipitation of Rb and Rev-Erb could not be detected in cultured cells. These results suggest that Rb regulates the Cry1 promoter in a Rev-Erb $\alpha/\beta$  independent manner.

共同研究者	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				